

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-147841

(43)公開日 平成7年(1995)6月13日

(51)Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 0 1 G 1/04	Z	1 0 1		

審査請求 未請求 請求項の数1 O L (全 8 頁)

(21)出願番号 特願平5-298545

(22)出願日 平成5年(1993)11月29日

(71)出願人 000122298

新王子製紙株式会社

東京都中央区銀座4丁目7番5号

(71)出願人 591097702

京都府

京都府京都市上京区下立売通新町西入藪ノ内町85の3

(72)発明者 原 弘

三重県亀山市能褒野町24-9 新王子製紙株式会社林木育種研究所亀山研究室内

(74)代理人 井理士 平木 祐輔 (外2名)

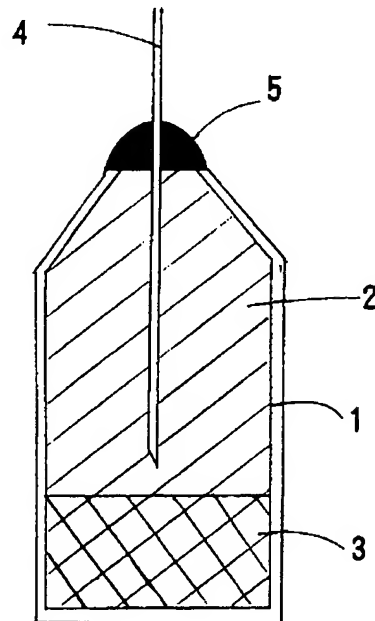
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 マツタケ等の菌根菌の菌根形成方法

(57)【要約】

【目的】 マツタケ等の菌根菌類の宿主となる樹木の根に確実に菌根を形成させる方法を提供する。

【構成】 マツタケ等の菌根菌の菌糸塊と、微細粒子からなる鉱物質とを順次充填した菌根形成容器を用意し、これに地中から掘り出した菌根菌の宿主樹木の根を、根切り処理を施し、さらに発根促進物質で処理した後、菌根形成容器中の鉱物質の中に挿入し、菌根形成容器を土中に埋め戻す。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 無菌処理を施した菌根菌の菌糸塊を敷き詰め、さらに前記菌糸塊上に無菌処理を施した微細粒子からなる鉱物質を充填し、次いで前記鉱物質中に根切り処理を施した菌根菌の宿主となる生きた樹木の根を無菌的に挿入した後、容器の開口部の隙間部分を密閉して土中に埋め戻し、前記根切り処理を施した根から新たに発生する根に菌根を形成させる菌根菌の菌根形成方法において、前記根切り処理を施した根を発根促進物質で処理することを特徴とするマツタケ等の菌根菌の菌根形成方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 菌根菌類に属するマツタケ、ホンシメジ、シャカシメジ、ショウロ、トリュフ等のきのこは食用きのことして極めて珍重されている。これらはシイタケ、エノキタケ等の腐生菌類とは異なって人工栽培することができないので、もっぱら自然条件下で発生しているものを採取して食用に供している。これらの菌類は特定の宿主樹木類の根に寄生または共生して菌根を形成して「シロ」と呼ばれる発生場所を作っている。本発明はこのような菌根菌の菌根を人工的に形成させる方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 マツタケ、ホンシメジ、ショウロ、トリュフ等の菌根菌類は、生きた植物の根に寄生または共生して菌根を形成し、さらにシロと呼ばれる子実体の発生区域を形成して生育している。これらのきのこ類を人工的に発生させる方法について、長年にわたる研究や試みが行われてきた（伊藤武、「'86 版きのこ年鑑」、農村文化社、1985年）。しかしながらこれらのきのこ類については、枯れ木や落葉等を分解して養分として利用・生育する腐生性菌類とは異って、人工的にシロを形成させることには成功しているが、子実体を発生させる方法については、屋外では勿論、実験室のレベルでも成功していない。

【0003】 ここで、最も多くの関心がもたれ、試験・研究例も多いマツタケについて以下に説明する。従来、マツタケはもっぱら自然に発生するものを採取して食用に供してきたが、昭和30～40年頃から発生量が低下してきた。この原因は、農山村における生活様式の変化によって、落葉や枯れ枝の燃料としての利用、あるいは、肥料や飼料等としての利用の減少等によって山が放置されたことによる。このため、アカマツ林では急速に雑木や雑草が繁茂して林内は風通しが悪く、さらに、光も入らず湿った状態となり、これによって土壌中にはマツタケ菌の生育にとって有害となるきのこやかびが増加する等、マツタケ菌の生育環境が悪化した。

【0004】 このような発生量の低下とこれによるマツタケ価格の上昇に伴って、これを林地で、さらには室内

で人工的に発生させようという試みが多く行われてきた（「マツタケ山の作り方」、マツタケ研究懇話会編、創文、1983年。「富永保人博士退職記念論文集」、広島農業短期大学、1985年）。しかしながら、これらの方法も普遍的なものではなく、またその効果も疑わしいものが多く実用的な技術には至っていない。これらのいくつかの方法のうち、アカマツ林内でマツタケの菌根を形成させてシロを作る方法としては、「植生手入れ法」、「胞子液散布法」、「感染苗法」、「集根施業法」等が試みられている。

【0005】 「植生手入れ法」は、アカマツの林齢が30年生程度までの林分を対象として、アカマツの枯損木、被圧木、病虫害による被害木等の伐倒と雑木の刈り払いを行って林内を明るくすると共に通風を図るものである。さらに、マツタケ菌の生育にとって有害な土壌微生物の生育を抑制するために、地表の堆積物を掻き取って林外へ搬出する。このようにして、隣接地等から飛散するマツタケの胞子が林内の土壌中で繁殖しやすくし、アカマツの根に菌根を形成させてシロを創成する方法である。

【0006】 「胞子液散布法」は、上記のようにして植生手入れを行った林分において、マツタケの胞子を懸濁した液を散布して菌根を形成させ、さらにはシロ形成を図る方法である。「感染苗法」は、2～5年生のアカマツの苗をマツタケのシロの前方に植え付けて1～2年間育成する。この間にアカマツの苗にマツタケ菌が感染する（これを「感染苗」と呼ぶ）ので、これを別の場所に移植してマツタケ菌を二次感染させることによってシロ形成を図る方法である。

【0007】 「集根施業法」は、アカマツの根を人為的に切断（根切り）して多くの新しい細根を発生させ、さらにアゼシート等を用いてこれらの根を一定の箇所に集めて、ここに胞子液を散布あるいは感染苗を植え付ける方法である。以上述べた「植生手入れ法」はアカマツ林の地上部分の環境条件を改善して、地下の土壌条件やアカマツの根の状態、さらにはシロの土壌微生物相等の改善も期待するものである。また、「胞子液散布法」、「感染苗法」、あるいは、「集根施業法」は植生手入れ法だけでは不備な部分を補おうとするものであるが、いずれも効果の確実性に欠け、実用化の段階には至っていない。

【0008】 また、マツタケのシロのなかでマツタケ菌の生育が旺盛な活性菌根帯ではマツタケ菌以外の微生物が非常に少ないという事実がある（小川真、林業試験場報告、NO.272、1975。原・藤田、第37回日本林学会関西支部講演集、323～327、1986）。これを応用して、マツタケのシロのなかから、マツタケ菌以外の微生物の増殖を抑制する能力のある抗菌性菌を分離して、これを使ってマツタケのシロを創成する方法もある（特開平1-25226号）。しかしながら、この方法も効果の確実性に欠け

るものであり、まだ実用化の段階には至っていない。

【0009】また、特開昭63-230018号公報および特開平2-142423号公報には疎水性繊維で構成された袋にアカマツの根の浸出液を含浸させて滅菌したオガクズを充填し、その上にマツタケの胞子あるいは菌糸や組織を接種して密封する。この袋をアカマツの根に接触するように埋設する。その後、袋の中でマツタケの胞子が発芽あるいは菌糸が生長して、アカマツの根が袋を貫通する際に菌根を形成させる方法が開示されている。しかしながらこの方法の場合、アカマツの根は無菌ではなくすでに他の菌と菌根が形成されているおそれがある。

【0010】この他にも、特開平4-71423、4-71424、4-71425号公報には、微細粒子からなる鉱物質とマツタケの菌糸塊を充填した容器（菌根形成用容器）の中へ、根切り処理を施したアカマツの根の先端部分を挿入し、密閉して土中に埋め戻し、根の切り口等から新たに発生した細根にマツタケ菌を感染させて菌根を形成させ、マツタケのシロを形成させる方法や、特開平4-112724号公報には、宿主樹木の根系を分割し、一方の根系に菌根菌を接種して菌根を形成させ、他方の根系を養水分吸収専用根系とする菌根菌のシロ形成方法もある。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、従来技術の有する問題点を解消するために、菌根形成用容器を使って菌根菌類の菌根形成を図る方法において、容器内へ挿入する根切り処理をした根の切り口およびその付近を発根促進物質で処理して、宿主樹木の発根を促進して、目的とする菌根菌の菌根を確実に形成させる方法を提供する。

【0012】

【課題を解決するための手段】本発明のマツタケ等の菌根菌の菌根形成方法は、無菌処理を施した菌根形成用容器の底部に、純粋培養した菌根菌の菌糸塊を敷き詰め、さらに前記菌糸塊上に無菌処理を施した微細粒子からなる鉱物質を充填し、次いで前記鉱物質中に根切り処理を施した菌根菌の宿主となる生きた樹木の根を無菌的に挿入した後、容器の開口部の隙間部分を密閉して土中に埋め戻し、前記根切り処理を施した根から新たに発生する根に菌根を形成させる菌根菌の菌根形成方法において、前記根切り処理を施した根を発根促進物質で処理することを特徴とするものである。

【0013】以下、本発明について詳細に説明する。本発明において用いられる宿主樹木は、アカマツやクロマツ等の針葉樹およびクヌギやコナラ等の広葉樹で、菌根菌と菌根を形成するものであるならばすべて使用可能である。

菌根菌の菌糸塊の作成方法

使用する菌根菌類の菌糸塊は、採取した新鮮な子実体を組織培養して得ることができる。また、傘が開きかけの子実体から採取した胞子を培養して得る方法もある。す

なわち、組織培養または胞子を培養して得られた菌糸の継代培養を繰り返して目的とする菌根菌だけの純粋の菌糸（種菌）を得る。ついで、これを液体培養して原菌を作り、これを支持体である通気性および水分保持力の優れた鉱物質に接種して培養し、菌糸塊を得る。なお、ここでいう菌糸塊とは、必ずしも1個の塊状になっている必要はなく、いくつかの個々の菌根菌が菌糸によってつづり合わされている状態のものでよい。支持体としては、バーライト、日向土、川砂、山土心土（森林等のC層の土壌）、鹿沼土、赤玉土、バーミキュライト、石英砂、ガラスビーズ、セラミックファイバー、ロックウールまたは、十分に水洗いした海砂等を使用することができる。なお、この支持体は後に記載する菌根形成用容器に充填する鉱物質と同一のものとすることによって菌根の形成がより確実に行われる。

菌根菌類

本発明の対象となる菌根菌類は主として食用菌類であるが、医薬品原料等に用いられる毒菌類に属するものでもよい。主なものとしては、下記の菌類を例示できる。

(A) 食用菌類

マツタケ (*Tricholoma matsutake*)

ホンシメジ (*Lyophyllum shimeji*)

シャカシメジ (*Lyophyllum fumosum*)

アイシメジ (*Tricholoma sejunctum*)

アイタケ (*Russula virescens*)

アミタケ (*Suillus bovinus*)

アンズタケ (*Cantharellus cibarius*)

オオモミタケ (*Catathelasma imperiale*)

クロカワ (*Boletopsis leucomelas*)

30 キシメジ (*Tricholoma flavovirens*)

コウタケ (*Sarcodon aspratus*)

シヨウロ (*Rhizopogon rulescens*)

シロシメジ (*Tricholoma japonicum*)

シモフリシメジ (*Tricholoma portentosum*)

タマゴタケ (*Amanita hemihapha*)

トリュフ (*Tuber* sp.)

ヌメリササタケ (*Cortinarius pseudosaior*)

ハツタケ (*Lactarius hatsudake*)

ハナイグチ (*Suillus grevillei*)

40 ホウキタケ (*Ramaria bocrycis*)

マツタケモドキ (*Tricholoma robustum*)

(B) 有毒または薬用菌類

オオワライタケ (*Gymnopius spectabilis*)

タマゴテングタケ (*Amanita fuliginea*)

テングタケ (*Amanita pantherina*)

ドクベニタケ (*Russula emetica*)

ベニテングタケ (*Amanita muscaria*)

マツシメジ (*Tricholoma striatum*)

微細粒子からなる鉱物質

50 純粋培養した菌根菌類の菌糸塊と菌根が成長する場とし

ての、菌根形成用容器の中に充填する鉱物質が具備すべき条件は以下の通りである。

- (1) 高温殺菌またはガス殺菌が可能であること。
- (2) 鉱物質の種類によって含水率は異なるが、PF値が1.8〜3.8程度の水分を保持すること。
- (3) 通気性が良好であること。
- (4) 宿主樹木の発根および発根した根と菌根菌の菌糸塊の生育を阻害しないこと。
- (5) 雑菌類の繁殖を阻害するために、多量の有機物を含まないこと。

【0014】このような条件を満たす鉱物質としては、平均粒子径が2〜5mmの微細粒子からなる鉱物質が好ましく、パーライトや日向土等の園芸用土が有利に用いられる。また、有機物を含まない川砂や山土心土、鹿沼土、赤玉土、パーミキュライト、石英砂、または、十分に水洗いして塩分を除去した海砂等も使用できる。その他、セラミックファイバーあるいはロックウール等も使用することができる。また、これらを適宜混合して使用することも有効である。

【0015】このような鉱物質に埋め込んだ菌根菌の菌糸の成長を促進するための養分として、担子菌の培養に使用している各種の培地（青島清雄他編、菌類研究法、共立出版、1984）を少量添加することが有効である。また、鉱物質の含水率は、PF値が1.8〜3.8程度になるように調整することが好ましい。具体的には、鉱物質の種類により異なるが、0.5〜20%の含水率であることが好ましい。

菌根形成用容器の材質

本発明において使用する容器の材質は以下の条件を満たすものであれば、いかなるものであってもよい。

- (1) 高温殺菌またはガス殺菌が可能であること。
- (2) 容器内に雨水や微生物等が浸透しない物質。
- (3) 容器状に成形が可能な物質。

【0016】このような条件を満たすものとしては、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、ポリビニール、ポリサルフォン、ポリメチルペンテン、アクリル、ナイロン、テフロン等の化学合成した高分子物質やゴム、ガラス、あるいは土壌の中で10か月以上の期間分解されないように殺菌剤等を含浸させた紙等でもよい。さらに、高分子物質とこのような紙とを貼り合わせたラミネート紙、太陽光線あるいは微生物等によって自然分解することが可能な分解性プラスチック類も使用することができる。これらが、硬質物質であっても、軟質物質であっても使用することが可能である。さらには、寒天またはゼラチン等の水との溶解液を加熱して固化させたものも使用することができる。

菌根形成用容器の形状および大きさ

円筒形や直方体、立方体、球形、三角錐その他の形状をした袋状のもの、ビン状のもの、箱状のものが可能である。

【0017】これらの形状をした容器の一部に、純粋培養した50〜200gの量の菌根菌類の菌糸塊を挿入することを可能にする直径5〜10cmの開口部を設ける。この開口部は根切り処理した宿主樹木類の根を挿入した後は密閉することが可能な構造であることが必要である。例えば、袋状のものではビニールテープ、紐、あるいは金属やプラスチック類等でできたピンその他の部品や、パテあるいはラノリンやワセリン等のペースト状の物質等で開口部を密閉する。また、ビン状や箱状のものでは、根を挿入するための穴の付いたフタをつけておくことが必要である。さらに、容器内部へ空気や水分さらには栄養物の補給ができるような孔を付けてもよい。

菌根形成用容器の作成

前述の容器内に菌糸塊および微細粒子からなる鉱物質を充填して、例えば図1に示すような構成の菌根形成用容器を作成する。この菌根形成用容器に根切り処理後に発根促進物質で処理した宿主樹木の根を例えば図2に示すような構成になるように挿入する。この際、根の先端が菌糸塊に接触しないようにする必要があり、好ましくは、前記根の先端と菌糸塊との間に、5〜10cm程度の間隔をあける。

【0018】なお、鉱物質および菌糸塊の使用量は、使用する容器の大きさに合わせれば良く、鉱物質の場合0.2〜1.5L程度、また菌糸塊の場合50〜200g程度の使用量が好ましい。

発根促進物質

発根促進物質としては、主に植物ホルモン類が使われている。植物ホルモンは「植物によって生産される成長調節物質で、低濃度で植物の生理過程を調節する物質である。ホルモンは通常、生産されている部域から作用する部域へ植物体内を移動する」と定義されている。物質としては、オーキシシン、ジベレリン、サイトカイニン、アブジジン酸、エチレン、ブラシノライド等が知られている。その他に、エチクロゼート、1-ナフチルアセトアミド等もある。

【0019】これらの中から、木本植物の発根促進に多く用いられているものはオーキシシン類の物質である。オーキシシン類の種類としては、 β -インドール酢酸（IAA）、 β -インドール酪酸（IBA）、 α -ナフタレン酢酸（NAA）、 α -ナフチルアセトアミド（NAd）、2,4ジクロロフェノキシ酢酸（2,4-D）、2,4,5トリプロピオン酸（2,4,5-TP）等である。

【0020】これらのものは既に液剤や粉剤、ペースト状にして市販され、草本および木本類の挿し木等に用いられているものであり、本発明においてもこれらを使用することが出来る。

宿主樹木の根切り処理

根切りを行う時期は雑菌類の繁殖が少なく、根切りした根からの発根が容易な10月から翌年の4月頃までが可能

であるが、特に12月から2月の気温の低い時期が最適である。

【0021】対象とする樹木の根元付近の土を丁寧に掻き除いて根を浮かせた状態にしてから、根の太さ5～20mm程度のものを選定する。太さが5mm未満の細いものや、反対に20mmを超える太いものは発根し難いので好ましくない。選定した根の表皮（粗皮）を長さ20cm程度の範囲で、清潔な手指等で軽く除去し、その部分をエチルアルコール（濃度50～80%）、メチルIー（ブチルカルバモイル）-2-ベンゾイミダゾールカーバメート（三共製、ベンレート）の10～100倍液またはアンチホルミン（次亜塩素酸ナトリウム溶液、10～70%）の各溶液を噴霧するか、あるいは溶液を染込ませたガーゼ等で拭いて殺菌する。そして、殺菌した部分のほぼ中央部を鋭利な刃物で切断する。

【0022】つぎに、切断した根の樹体側の部分を発根促進物質である、例えば、 β -インドール酪酸（シオノギ製薬製、オキシベロン）、5-クロロ-1H-3-インダゾリル酪酸ナトリウム（日産化学工業製、ルチエス）、あるいは1-ナフチルアセトアミド（日本農薬製、ルートン）等の液剤、粉剤、塗布剤で処理する。根の挿入と埋め戻し

殺菌および発根促進物質の処理をした根を前記のようにして準備した菌根形成用容器の中の充填物の中へ素早く差し込んで、容器の開口部を閉じ、あるいは容器の種類によっては根と容器との隙間の部分を疎水性セラミックファイバーやバテあるいはラノリンやワセリン等のペースト状の物質等で詰めて容器内を密閉する。この場合、鉬物質の中へ挿入する根の深さは5～10cmが適当である。そして、丁寧に土中に戻した後、やはり微生物の少ないバーライトや日向土が有利であるが入手が困難な場合は山土心土で、露出させた根および容器を埋め戻し、地表面は雨水が入らないようにビニールシート等で被覆し、さらにマツ葉等の落葉を敷いて土壌の乾燥を防ぐ。

【0023】

【実施例】以下実施例によって本発明をさらに具体的に説明する。

実施例1

菌糸塊の作成

新鮮なマツタケの子実体の内部組織の一部を切り取って、表1に示した培地で組織培養した。

【0024】これによって得られた菌糸を同じ培地で継代培養を反復して、純粋培養したマツタケ菌糸（種菌）を作製した。いっぽう、300mlの三角フラスコに表2に示した浜田改変培地50mlを入れて120℃、1.2気圧で20分間オートクレーブで殺菌した。放冷後に5mm角程度の大きさの上記の種菌を数片接種して、25日間暗所で静置培養して原菌を得た。

【0025】つぎに、この原菌を使って菌糸塊を作製した。すなわち、2～5mmの大きさの粒径に調整したバー

ライトを105℃に調整した乾燥機で24時間乾燥した。これらの100gを200ml容の培養ビンに入れ、また、浜田改変培地12mlを加えて120℃で2時間オートクレーブで殺菌した。放冷後、ホモジナイズした上記の原菌液3mlを接種して20℃の室温に調節した培養室で80日間培養して菌糸塊を得た。

【0026】

【表1】

組織培養及び継代培養培地

成分名	組成量
ぶどう糖	20g
乾燥酵母	5g
寒天	15g
水	1ℓ
pH	5.1

【0027】

【表2】

浜田改変培地

成分名	組成量
ぶどう糖	10g
乾燥酵母	2g
KH ₂ PO ₄	1g
水	1ℓ
pH	5.1

【0028】菌根形成用容器の作成

鉬物質として、上に記載したものと同一バーライトを105℃に調節した乾燥機で36時間乾燥したものを使用した。容器としては、ポリプロピレン製の1L容のきのこ栽培袋を0.5L容に改良したものを使用した。そして、クリーンベンチ内で、上記のマツタケの菌糸塊50gを図1に示すように容器の底部に敷き詰め、さらに、あらかじめ120℃、1.2気圧で90分間オートクレーブで殺菌して放冷した上記バーライトを充填して密封した。

菌根形成作業

菌根形成は京都府内のアカマツ林内で行った。本林分の土壌は古生層のチャート之母材としたBa～B₂型の褐色森林土壌で、土性は埴壌土である。土壌は浅くアカマツの根系も浅い部分のみに分布し、深さ25cm以下にはほとんど見られなかった。林況は、林齢25～30年生の天然生のアカマツが約6500本/haの密度で生育し、その平均樹高は6.5m、平均胸高直径は4.1cmであり生育状態は良くない。林内にはアカマツ以外の樹種として、ソゴ、アセビ、ネジギ等の低木類が多い。

【0029】1990年2月に、このような状況にあるアカマツ林の尾根に近い位置にあるアカマツを供試木として、その根元から1.5m離れた場所に等高線に沿って、深さ15cm、幅30cm、長さ50cmの範囲に土壌を取り除いて根を露出させた。この根の中から直径約10mmのものを選んで長さ20cm程度の範囲の粗皮を清潔な手指で取り除き、さらに70%濃度のエチルアルコール水溶液を含ませたガ

ーゼで拭いて殺菌処理を行った。この根のはば中央部を、同じ濃度のアルコール溶液で殺菌処理した鋭利な刃物で切断した後、樹体側の根を発根促進物質であるβ-インドール酪酸（シノノギ製薬製、オキシベロン）の40倍溶液を直径3cm、長さ20cmの試験管に70mlを入れた中へ挿入して4時間浸漬したのち、菌根形成用容器内の鉍物質の中に素早く差し込んだ。そして開口部を再度同じ濃度のアルコール溶液を含ませたガーゼで拭いて殺菌後、やはりオートクレーブで殺菌処理した疎水性セラミックファイバーを開口部に挟み込んで密閉し、ビニールテープで固定した。このようにした菌根形成用容器をパーライトで埋め戻した。さらに、雨水の侵入を防ぐためにビニールシートで被覆し、さらにマツ葉等の落葉を敷いて土壌の乾燥を防いだ。

【0030】11月に、菌根形成用容器を掘り出して、新しく発生した根にマツタケの菌根が形成されているか否かを顕微鏡観察した。この結果によれば、発根は30容器を処理して14容器に、それぞれ1〜3本ずつが発根して、発根した本数は全体で39本であった。さらに39本の根のうち18本にマツタケの菌根が観察されるとともに容器内のマツタケ菌も肉眼で観察される程度まで白い菌糸が認められた。

実施例2

実施例1と同様にしてアカマツの根にマツタケの菌根を形成した。ただし、発根促進物質としてβ-インドール酪酸の代わりに、5-クロロ-1H-3-インダゾリル酢酸ナトリウム（日産化学工業製、ルチエース）を使用し、実際の菌根形成作業においては、殺菌処理して切断した樹体側の根を滅菌水に浸漬して濡らした後、5-クロロ-1H-3-インダゾリル酢酸ナトリウムをまぶし、直ちに菌根形成容器の中に挿入した。

【0031】その結果、処理数30容器のうち11容器に1〜3本の発根が認められ、発根本数は全体で34本であった。さらに、34本の根のうち、14本にマツタケの菌根が観察されるとともに、容器内にはマツタケの白色の菌糸が観察された。

実施例3

実施例1と同様にしてアカマツの根にマツタケの菌根を形成した。ただし、発根促進物質としてβ-インドール酪酸の代わりに1-ナフチルアセトアミド（日本農薬製、ルートン）を使用し、実際の菌根形成作業においては、1-ナフチルアセトアミドに水を加えてペースト状にしたものを切断した根の切口に塗布し、しばらく放置して乾かしてから菌根形成容器の中に挿入した。

【0032】その結果、処理数30容器のうち16容器に1〜3本の発根が認められ、発根本数は全体で30本であった。さらに、30本の根のうち、20本にマツタケの菌根が観察されるとともに、容器内にはマツタケの白色の菌糸が観察された。

実施例4

菌糸塊の作成

新鮮なホンシメジの子実体の内部組織の一部を切り取って、表1に示した培地で組織培養した。これによって得られた菌糸を同じ培地で継代培養を反復して、純粋培養したホンシメジ菌糸（種菌）を作製した。いっぽう、300mlの三角フラスコに表2に示した浜田改変培地50mlを入れて、120℃、1.2気圧で20分間オートクレーブで殺菌した。放冷後に5mm角程度の大きさの上記の種菌を数片接種して、15日間暗所で静置培養して原菌を得た。

【0033】つぎに、この原菌を使って菌糸塊を作製した。すなわち、2〜5mmの範囲の粒子径に調整したパーライトを105℃に調整した乾燥機で24時間乾燥した。これの100gを200ml用の培養ビンに入れ、また、浜田改変培地8mlを入れて、120℃、1.2気圧で2時間オートクレーブで殺菌した。放冷後、ホモジナイズした上記の原菌液3mlを接種して、22℃の室温に調整した培養室で40日間培養して菌糸塊を得た。

菌根形成用容器の作成

鉍物質としては、菌糸塊を作成したものと同様にパーライトを使い、105℃に調整した乾燥機で36時間乾燥した。これに表2に示した浜田改変培地を1/2の濃度に希釈した液を鉍物質1kg当たり5ml添加した。

【0034】容器としては、ポリプロピレン製の1L用のきのこ袋を0.5L容に改良したものを使用した。クリーンベンチ内で上記のホンシメジの菌糸塊50gを、図1に示すように容器の底部に敷き詰め、さらにあらかじめ120℃、1.2気圧で90分間オートクレーブで殺菌して放冷したパーライトを充填して密封した。

菌根形成作業

菌根形成は京都府内のアカマツとコナラの混交林内で行った。本林分の土壌は花崗岩を母材としたB₁〜B_c型の褐色森林土壌で、土性は埴壌土である。土壌は浅くアカマツ、コナラの根系も浅い部分のみに分布し、深さ30cm以下にはほとんど見られなかった。林齢25〜30年の天然生のアカマツが約2500本/haの密度で生育し、その平均樹高は7.0m、平均胸高直径は4.5cmである。いっぽう、コナラは林齢が20〜25年の天然生であり約450本/haの密度で生育し、平均樹高は5.5m、平均胸高直径4.0cmで両樹種とも生育状態は良くない。アカマツ、コナラ以外の樹種としては、ソヨゴ、アセビ、ミツバツジ、ヒサカキ、ネジキ等の低木類が多い。

【0035】1990年2月に、このような林況にあるアカマツとコナラの混交林で尾根から10m程度下がった位置にあるアカマツとコナラを供試木として、その根元から1.5m離れた場所に等高線に沿って、深さ15cm、幅30cm、長さ50cmの範囲に土壌を取り除いて根を露出させた。その後の操作は実施例1と同様に行った。11月に、菌根形成用容器を掘り取ってその中で新しく発生した根にホンシメジの菌根が形成されているか否かを調査した。

11

【0036】アカマツについては30容器を設定して16容器に、それぞれ1～4本ずつが発根して、発根した本数は全体で43本でこのうち、22本に菌根が形成されていた。また、コナラについては30容器を設定して21容器にそれぞれ3～5本ずつが発根して、発根した本数は全体で64本で、このうち36本に菌根が形成されていた。

実施例5

実施例1および2のマツタケとホンシメジに代えてショウロを使用した。菌糸塊の作成および菌根形成用容器の作成等は実施例1および2と同様である。

菌根形成作業

ショウロのクロマツへの菌根形成は、京都府竹野郡網野町の海岸で行った。ここには、林齢10年生のクロマツが約2000本/haの密度で植栽されている。樹高は2.5～4.0m、胸高直径は4.0cmであるが、潮風の影響によって内陸側に樹冠が傾斜し、あるいは矮性化しており生育は良くない。下層植生としてはハマゴウが部分的に見られる。

【0037】このような状況にあるクロマツ林で根切りを1990年2月に実行した。方法等は実施例1および4と同様であるが、海岸の砂に生育しているクロマツの根系は林地の場合に比べて深い位置にあるために広い場所の砂を取り除いて根を露出させることが必要であった。11月に、菌根形成用容器を掘り出して新しく発生した根にショウロの菌根が形成されているかどうかを調査するために実験室に持ち帰って、顕微鏡観察した。この結果によれば、15容器を設定して7容器にそれぞれ2から3本ずつが発根して発根数は全体で15本で、このうち8本に菌根の形成が観察された。

比較例1

菌糸塊の作成および菌根形成用容器の作成、菌根形成作業等は実施例1と同様の方法にて行った。ただし、切断した後の根の発根促進物質の処理は行わずに実施した。

12

【0038】その結果によれば、処理数10容器の内2容器のみにそれぞれ1本と2本の発根が認められ、これらには菌根の形成が観察された。

比較例2

実施例2と同様の操作を行った。ただし、切断した後の根の発根促進物質の処理は行わなかった。

【0039】その結果、アカマツおよびコナラとも処理数10容器の内1容器のみに2本の発根が認められ、さらに菌根の形成が観察された。

10 比較例3

実施例3と同様の操作を行った。ただし、切断した後の根の発根促進物質の処理は行わなかった。

【0040】その結果、処理数10容器の内3容器にそれぞれ1～2本の発根が認められ、これらには菌根の形成が観察された。

【0041】

【発明の効果】以上説明したとおり、本発明によれば、菌根形成用容器を使用する菌根菌類の菌根形成方法において、宿主樹木の根切りした根を発根促進物質で処理することによって宿主樹木に目的とする菌根菌類の菌根を確実に形成させることが可能になった。

【図面の簡単な説明】

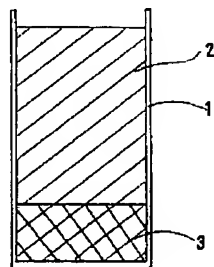
【図1】本発明において使用する菌根形成容器の1例を示す断面説明図である。

【図2】菌根形成容器の中に宿主樹木の根を挿入した1例を示す断面説明図である。

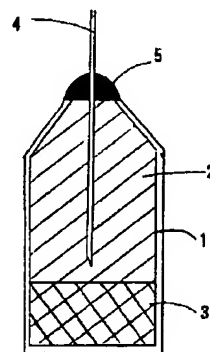
【符号の説明】

- 1…菌根形成容器
- 2…微細粒子からなる鉱物質
- 3…菌糸塊
- 4…宿主樹木の根
- 5…隙間部分密閉物質

【図1】



【図2】



【手続補正書】

【提出日】平成6年1月24日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0029

【補正方法】変更

【補正内容】

【0029】1990年2月に、このような状況にあるアカマツ林の根根に近い位置にあるアカマツを供試木として、その根元から1.5m離れた場所に等高線に沿って、深さ15cm、幅30cm、長さ50cmの範囲に土壌を取り除いて根を露出させた。この根の中から直径約10mmのものを選んで長さ20cm程度の範囲の粗皮を清潔な手指で取り除き、さらに70%濃度のエチルアルコール水溶液を含ませたガーゼで拭いて殺菌処理を行った。この根のほぼ中央部を、同じ濃度のアルコール溶液で殺菌処理した鋭利な刃物で切断した後、樹体側の根を発根促進物質であるβ-インドール酪酸（シオノギ製薬製、オキシベロン）の40倍溶液を直径3cm、長さ20cmの試験管に70mlを入れた中へ挿入して4時間浸漬したのち、菌根形成用容器内の鉍物質の中に素早く差し込んだ。そして開口部を再度同じ濃度のアルコール溶液を含ませたガーゼで拭いて殺菌後、やはりオートクレーブで殺菌処理した疎水性セラミックファイバーを開口部に挟み込んで密閉し、ビニールテープで固定した。このようにした菌根形成用容器をバークライトで埋め戻した。さらに、雨水の侵入を防ぐため

にビニールシートで被覆し、さらにマツ葉等の落葉を敷いて土壌の乾燥を防いだ。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0036

【補正方法】変更

【補正内容】

【0036】アカマツについては30容器を設定して16容器に、それぞれ1〜4本ずつが発根して、発根した本数は全体で43本でこのうち、22本に菌根が形成されていた。また、コナラについては30容器を設定して21容器にそれぞれ3〜5本ずつが発根して、発根した本数は全体で64本で、このうち36本に菌根が形成されていた。

実施例5

実施例1および4のマツタケとホンシメジに代えてショウロを使用した。菌糸塊の作成および菌根形成用容器の作成等は実施例1および4と同様である。

菌根形成作業

ショウロのツロマツへの菌根形成は、京都府竹野郡網野町の海岸で行った。ここには、林齢10年生のクロマツが約2000本/haの密度で植栽されている。樹高は2.5〜4.0m、胸高直径は4.0cmであるが、潮風の影響によって内陸側に樹冠が傾斜し、あるいは矮性化しており生育は良くない。下層植生としてはハマゴウが部分的に見られる。

フロントページの続き

(72)発明者 柴田 勝

三重県亀山市能褒野町24-9 新王子製紙
株式会社林木育種研究所亀山研究室内

(72)発明者 藤田 博美

京都府京都市上京区下立売通新町西入藪ノ
内町 京都府農林水産部内

(72)発明者 藤田 徹

京都府船井郡和知町字本庄小字土屋1番地
京都府林業試験場内

PAT-NO: JP407147841A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 07147841 A

TITLE: METHOD FOR DEVELOPING MYCORRHIZA OF
MYCORRHIZA FUNGUS
SUCH AS TRICHOLOMA MATSUTAKE

PUBN-DATE: June 13, 1995

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

HARA, HIROSHI

SHIBATA, MASARU

FUJITA, HIROMI

FUJITA, TORU

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

NEW OJI PAPER CO LTD

N/A

KYOTO PREF GOV

N/A

APPL-NO: JP05298545

APPL-DATE: November 29, 1993

INT-CL (IPC): A01G001/04, A01G001/04

ABSTRACT:

PURPOSE: To surely develop mycorrhiza of mycorrhiza fungi by treating the root of a tree as a host of mycorrhiza fungi such as Tricholoma matsutake with a rooting-promotive substance followed by inserting the root into a mineral substance under specified conditions.

CONSTITUTION: Mycelial lumps 3 of purely cultured mycorrhiza fungi are spread all over the bottom of a sterilized vessel 1 for developing mycorrhiza,

and a mineral substance 2 consisting of sterilized fine granules is then packed onto the mycelial lumps 3. The root of a host tree for the mycorrhiza fungi dug up from the ground is subjected to root cutting and then treatment with a rooting-promotive substance such as β -indoleacetic acid. Then, the resultant root is aseptically inserted into the mineral substance 2 in the vessel 1, and the gap at the opening of the vessel 1 is closed and the vessel 1 is buried in the ground again, and the objective mycorrhiza of the mycorrhiza fungi is developed on the root newly grown from the inserted root.

COPYRIGHT: (C)1995,JPO